

# **HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL PRODUK**

**Disusun Oleh**

**Dr, Titta Novianti, M.Biomed**

**Dwinanto Purnantiyo, ST.**

**Sabar Pambudi, PhD**

**Alfero Putra Iryanto, S.Biotek.**

**Singleplex Gen Deteksi Tuberculosis Multidrug Resisten di Indonesia  
Menggunakan Reagen kit RT-PCR**

**Jakarta**

**2022**

## Latar Belakang

Penyakit Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular berbahaya, dan terjadi pertambahan kasus baru sebanyak seperempat juta kasus. Sekitar 140.000 kasus kematian terjadi setiap tahunnya. Tahun 2013 Indonesia termasuk dalam negara ke-4 tertinggi di dunia dengan masalah TB dan menyebabkan sekitar 140.000 kematian setiap tahun. Banyak penderita di Indonesia yang tidak patuh terhadap obat antibiotik, sehingga menimbulkan multidrug resisten pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Jenis antibiotik tersebut termasuk isoniazid (INH) dan rifampisin, yang saat ini merupakan dua pilihan pengobatan anti-TB yang paling kuat

Perkiraan Insiden MDR-TB (Multidrug resisten Tuberculosis) setiap tahun sebanyak 24.000 pasien. Antibiotik rifampisin merupakan antibiotik penting untuk TB, yang memiliki aktivitas bakterisida tinggi dan risiko rendah. Namun, sekitar 8% pasien dengan TB di seluruh dunia memiliki TB yang resisten terhadap rifampisin. Pasien dengan resistensi rifampisin yang dikonfirmasi telah dilaporkan menunjukkan hasil yang lebih buruk seperti tingkat kegagalan pengobatan yang lebih tinggi, kekambuhan, dan resistensi obat. Uji diagnostic molekuler saat ini adalah uji diagnostic non MDR-TB, sehingga mutasi pada *Mycobacterium tuberculosis* tidak terdeteksi. Oleh karena itu kami mendesain gen primer plasmid dan DNA probe untuk deteksi mutasi pada sampel pasien MDR-TB spesifik dari sampel di Indonesia dengan uji RT-PCR.

Desain plasmid

Penelusuran genome *Mycobacterium tuberculosis* di Indonesia, penentuan kandidat gen dan mutasi target. Menentukan target gen dan mutasi dengan reference genome dan berdasarkan literatur, lalu membandingkan dan validasi dengan data lokal yang ada. Didapatkan bahwa mayoritas sampel TB MDR memiliki SNP pada gen *rpoB* codon 531 dan *katG* codon 315,

Desain primer dan probe spesifik SNP pada gen *rpoB* dan *katG*, Indent pemesanan. Desain disesuaikan untuk menggunakan LNA probe sehingga ikatan probe dengan template lebih kuat. Didapatkan probe dengan panjang masing-masing 13 bp dimana monomer LNA ditambahkan pada basa SNP dan 2 basa yang mengapitnya.

### Wild Type insert

5'-

```
gaattcCCGGTGGTCGCCGCGATCAAGGAGTTCTTCGGCACCAGCCAGCTGAGCCAATTCATGGACCAGA
ACAACCCGCTGTGGGGTTGACCCACAAGCGCCGACTGTGGGCGCTGGGGCCCCGGCGGTCTGTCACGT
GAGCGTGCCGGGCTGGAGGTCCGGCAGATGGGCTTGGGCTGGAAGAGCTCGTATGGCACCAGGAACCG
GTAAGGACGCGATCACCAGCGGCATCGAGGTCGTATGGACGAACACCCCGACGAAATGGGACAACAGT
TTCCTCGAGATCCTGTACGGCTACGACTGCGCGATGGCGAACTCAAGGAGCACATCAGCCGCGTCCACG
CCGCAACTACGGTGTTCACGGTGCCCGCAAAGTGTGGCTAACCTGAACCGTGAGGGCATCGAGGTG
GCCAGATGCACCGTCGAACGGCTGATGACCAAACTCGGCCTGTCCggatcc -3'
```

Length: 461 bp

Non-cutter RE: **EcoR1 (gaattc)**, **BamH1 (ggatcc)**, Xba1, Kpn1, HindIII

**MDR-Type-1 insert**

5'-

**gaattc**CCGGTGGTCGCCGCGATCAAGGAGTTCTTCGGCACCAGCCAGCTGAGCCAATTCATGGACCAGA  
ACAACCCGCTGTCGGGGTTGACCCACAAGCGCCGACTGTGGCGCTGGGGCCCGCGGTCTGTCACGTG  
AGCGTGCCGGGCTGGAGGTCCGGCAGATGGGCTTGGGCTGGAAGAGCTCGTATGGCACCCGGAACCGG  
TAAGGACGCGATCACCA**c**CGGCATCGAGTTCGTATGGACGAACCCCCGACGAAATGGGACAACAGTT  
TCCTCGAGATCCTGTACGGCTACGACTGCGCGATGGCGAACTCAAGGAGCACATCAGCCGCGTCCACGC  
CGCCAACTACGGTGTTCACGGTGCCCGCAAAGTGTGGCTAACCTGAACCGTGAGGGCATCGAGGTGG  
CCAGATGCACCGTCGAACGGCTGATGACCAA**ACTCGGCCTGTCCagatctggatcc** -3'

Length: 467 bp

Non-cutter RE: **EcoR1 (gaattc)**, **BamH1 (ggatcc)**, Xba1, Kpn1, HindIII,

Add cutter RE : **BglII (agatct) cut MDR type 1 ONLY**

Mutasi katG (RR)	Jumlah sampel	Mutasi rpoB (IR)	Jumlah sampel
Ser315Thr	27	Ser450Leu	21
Ser140Asn	2	His445Arg	5
Trp191Arg	2	His445Tyr	3
Gly279Asp	1	Gln432Leu	3
Gln 127Pro	1	Ser450Trp	2
Ser315Asn	1	His445Asp	2
Ala379Val	1	Asp435Tyr	3
Ser315Met	2	Asp435Val	1
		His445Cys	1



**Gambar 1. Desain plasmid gen rpoB dan KatG MDR-TB**